

*Матиевская Н.В., Цыркунов В.М., Прокопчик Н.И.,
Зубрицкий М.Г.*

**ЭКСПРЕССИЯ NS4 ВИРУСА ГЕПАТИТА С В КЛЕТКАХ
ПЕЧЕНИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ**
УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Течение ко-инфекции ВИЧ/ВГС характеризуется широким спектром клинических проявлений – от медленно прогрессирующего варианта (МПВ) с минимальной биохимической и гистологической активностью гепатита, спонтанным клиренсом РНК ВГС до быстро прогрессирующего варианта (БПВ) – с ускоренным формированием декомпенсированного поражения печени, приводящего к летальному исходу [1, 2].

Одними из патогенетических механизмов неблагоприятного исхода ВГС-инфекции у ВИЧ-инфицированных являются особенности репликации вируса гепатита С (ВГС) в печени. Известно, что структурный белок ВГС NS4 является компонентом репликативного комплекса ВГС. NS4 представлен двумя протеинами: NS4A с молекулярной массой 4 kd, выполняющего функцию ко-фактора NS2-NS3 протеазы, и NS4B, с молекулярной массой 27 kd. Протеину NS4B отводится ключевая роль в репликации ВГС, так как он индуцирует формирование мембранной сети на эндоплазматическом ретикулуме. Мембранная сеть состоит из мелких пузырьков, встроенных в мембранные матрицы, образуя мембрано-связанный мультибелковый комплекс, содержащий вирусные протеины, клеточные компоненты, вновь синтезированные нити РНК HCV. В настоящее время протеин NS4B рассматривается как перспективная точка приложения прямых противовирусных агентов для лечения ХГС [2].

Цель – оценить значение экспрессии NS4 HCV в клетках печени у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Материал и методы. Иммуногистохимические (ИГХ) исследования выполнены у 18 ВИЧ/ВГС-инфицированных пациентов (средний возраст $36,1 \pm 5,1$), мужчин - 7 (38,9%), женщин - 11 (61,1%); на стадии СПИД – у 15 (83,3), антиретровирусную терапию (АРТ) получали – 12 (66,7%). У 6 (33,3%) пациентов установлен БПВ патологии печени, представленный циррозом

(ЦП), у 12 (66,7%) – МПВ, который характеризовался наличием гепатита низкой активности (ГНА). Пациенты не получали противовирусную терапию ХГС. Иммуногистохимические исследования выполнены стрептавидин-биотиновым методом («Dako») в парафинизированных препаратах печени. Использовались моноклональные мышинные антитела (anti-HIV p24, anti-human HLA-DP, DQ, DR antigen) и поликлональные кроличьи антитела в стандартном разведении (DakoCytomation). Для определения NS4 HCV в цитоплазме клеток использованы мышинные антитела anti-hepatitis C (AbDserotec). Экспрессия маркеров выражена в баллах: 0 баллов – негативное окрашивание, 1 балл – слабая интенсивность, 2 балла – умеренная, 3 балла – резко выраженная интенсивность. Статистический анализ проводили с использованием пакета «Statistica» версии 10, данные представлены как медиана (Me), интерквартильный размах (ИКР).

Результаты. Экспрессия NS4 HCV в гепатоцитах (ГЦ) установлена у 9 (50%) пациентов с ко-инфекцией ВИЧ/ВГС. Особенности экспрессии p24 ВИЧ и HLA-DR в клетках Купфера (КК) в зависимости от экспрессии NS4 HCV в ГЦ представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Экспрессия p24 ВИЧ, HLA-DR в клетках Купфера в зависимости от наличия экспрессии NS4 HCV в гепатоцитах при ко-инфекции ВИЧ/ВГС

Маркер, абс/%	ВИЧ/ВГС, n=9			ВИЧ/ВГС, n=9		
	Экспрессия NS4 HCV+ в ГЦ			Экспрессия NS4 HCV- в ГЦ		
	1 балл	>1 балла	Me, ИКР	1 балл	>1 балла	Me, ИКР
p24ВИЧ в КК	4/44,4	3/33,3	1 (1 – 2)*	1/5,6	0	0 (0 – 0)
HLA-DR в КК	4/44,4	2/11,1	1 (0 – 1)*	0	0	0 (0 – 0)

Примечание: * - $p < 0,05$, Mann-Whitney UTest

Как видно из таблицы 1, экспрессия NS4 HCV в ГЦ ассоциировалась со значительно более выраженной экспрессией p24 ВИЧ в КК. При наличии NS4 HCV в ГЦ КК были инфицированы ВИЧ (p24+) в 77,8% случаев, в то время как при отсутствии – в 5,6%. Маркер активации КК – HLA-DR, DQ, DR - был экспрессирован в КК у 55,5% пациентов с репликацией ВГС в ГЦ и отсутствовал у пациентов без экспрессии NS4 HCV в ГЦ ($p < 0,05$).

Экспрессия p24 ВИЧ одновременно в ГЦ и КК выявлена у 8 (44,4%) пациентов. Установлено, что у таких пациентов экспрессия

NS4 HCV в ГЦ отмечена у 7 из 8 пациентов, Me, ИКР - 1,0 (1,0 - 2,0), в то время как у пациентов с отсутствием репликации ВИЧ в указанных клетках экспрессия NS4 HCV отмечена в 2 из 10 случаев, Me, ИКР - 0 (0,0 - 0,0), $p < 0,05$, Mann-Whitney UTest.

Таким образом, наличие маркера репликации ВИЧ в ГЦ ассоциировалось со значительно более выраженной репликацией ВГС в клетках печени.

При МПВ поражения печени экспрессия NS4 HCV в ГЦ установлена у 41,7% пациентов, при БПВ – у 66,7% ($p > 0,05$). Отмечена прямая корреляция между экспрессией NS4 HCV в ГЦ и наличием ЦП: $R = 0,37$ ($p = 0,03$).

Заключение. У пациентов с ко-инфекцией ВИЧ/ВГС имеет место синергизм в экспрессии маркеров репликации ВГС (NS4) и ВИЧ (p24) в клетках печени, который ассоциируется с активацией клеток Купфера и формированием БПВ поражения печени с исходом в цирроз печени. Полученные результаты, позволяют предположить, что противовирусные агенты, направленные на ингибирование репликативного комплекса ВГС в гепатоцитах, следует рассматривать как перспективные препараты в контроле над ко-инфекцией ВИЧ/ВГС.

Литература

1. Матиевская, Н.В. Ко-инфекция ВИЧ/ВГС: этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение : монография / Н.В. Матиевская. – Гродно : ГрГМУ, 2013. – 352 с.

2. Identification of AP80978, a Novel Small-Molecule Inhibitor of Hepatitis C Virus Replication That Targets NS4B / Jodi Dufner-Beattie [et al] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. - 2014. Vol. 58, N. 6. – P. 3399–3410.

Matsiyenskaya N.V., Tsyrkunov V.M., Prokopchik N.I., Zubritskiy M.G.

EXPRESSION OF NS4 HEPATITIS C VIRUS IN THE LIVER CELLS OF HIV-INFECTED PATIENTS

Grodno State Medical University, Grodno, the Republic of Belarus

Synergism between HIV and HCV replication in the liver cells has been detected in patients with HIV/HCV co-infection. It is associated with activation of Kupffer cells and the liver cirrhosis development.